

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表平10-502663

(43) 公表日 平成10年(1998) 3月10日

(51) Int.Cl. ⁸	識別記号	庁内整理番号	F I
A 6 1 K 31/73	ADS	9551-4C	A 6 1 K 31/73
31/725	ADA	9551-4C	31/725

ADS
ADA

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 18 頁)

(21) 出願番号 特願平8-504954
(86) (22) 出願日 平成7年(1995) 7月13日
(85) 翻訳文提出日 平成9年(1997) 1月16日
(86) 国際出願番号 PCT/SE 95/00856
(87) 国際公開番号 WO 96/02258
(87) 国際公開日 平成8年(1996) 2月1日
(31) 優先権主張番号 9402529-3
(32) 優先日 1994年7月19日
(33) 優先権主張国 スウェーデン (SE)

(71) 出願人 アストラ アクツィエボラーク
スウェーデン国 エス-151 85 セーデ
ルテリエ (番地なし)
(72) 発明者 ハンソン, ハンス-アルネ
スウェーデン国 エス-436 58 ホヴォ
ス, ドテヴィクスヴェーゲン 8番地
(72) 発明者 ヨハンソン-ルーデン, グニラ
スウェーデン国 エス-436 42 アシム,
ベルグスティゲン 20番地
(72) 発明者 ラーム, オレ
スウェーデン国 エス-169 39 プロマ,
ニュエングスヴェーゲン 86番地
(74) 代理人 弁理士 平木 祐輔 (外2名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗癒着剤

(57) 【要約】

創傷治癒との関連において、損傷組織と隣接または周辺組織との望ましくない癒着を防止するまたは実質的に減ずることができる作用剤を製造するための、キトサンと、それに固定された、ヘパリン、ヘパラン硫酸およびデキストラン硫酸から選ばれる多糖の使用、並びに前記の作用剤の使用方法。

【特許請求の範囲】

1. 創傷治癒との関連において、損傷組織と隣接または周辺組織との望ましくない癒着を防止するまたは実質的に減ずることができる作用剤を製造するための、キトサンと、それに固定された、ヘパリン、ヘパラン硫酸およびデキストラン硫酸から選ばれる多糖の使用。
2. 多糖がイオン結合によってキトサンに固定される、請求項1に記載の使用。
3. 多糖が共有結合によってキトサンに固定される、請求項1に記載の使用。
4. 多糖がヘパリンまたはヘパラン硫酸である、請求項1～3のいずれか1つに記載の使用。
5. 作用剤がフィルムまたは膜の形である、請求項1～4のいずれか1つに記載の使用。
6. 作用剤がチューブまたはホースの形である、請求項1～4のいずれか1つに記載の使用。
7. 作用剤がゲルの形である、請求項6に記載の使用。
8. 作用剤が粉末、エアロゾルまたは溶液の形である、請求項6に記載の使用。
9. キトサンが多くても約90%、好ましくは多くても約50%のN-アセチル化度を有する、請求項1～8のいずれか1つに記載の使用。
10. 創傷治癒の部位に、キトサンと、それに固定された、ヘパリン、ヘパラン硫酸およびデキストラン硫酸から選ばれる多糖とからなる作用剤を適用することを含んでなる、創傷治癒に関連した組織の望ましくない癒着を防止するまたは実質的に減ずる方法。
11. 作用剤がフィルムまたは膜の形で適用される、請求項10に記載の方法。
12. 作用剤がゲルの形で適用される、請求項10に記載の方法。
13. 作用剤がチューブまたはホースの形で適用される、請求項10に記載の方法。
14. 作用剤が粉末、エアロゾルまたは溶液の形で適用される、請求項10に記載の方法。

【発明の詳細な説明】**抗癒着剤****技術分野**

本発明は、新規な抗癒着剤、すなわち創傷治癒に関連した組織の望ましくない癒着を防止することができる製品、に関するものである。この製品はまた、組織の再生を刺激することによって治癒の質を高めることも可能である。

さらに、本発明は、このような組織の望ましくない癒着を防止する方法を含むものである。

発明の背景

希望どおりに、または目下の要求に応じて、我々が自由に動けるということは、生活の質にとって最も重要なことである。主として皮膚、粘膜および神経組織と密接に協同した筋骨格系の適切な機能は、我々の可動能力の必要条件であり、それ自体が骨、筋肉、腱などの異なる構造を互いに対して自由に動かせることを必要とする。こうした活動には動くための滑走帯、最小の摩擦および最大の自由が必要である。したがって、例えば、隣接する筋肉と腱の間の、さらに皮膚と隣接組織の間の、滑走系(sliding system)が最適な機能にとって必要とされる。同じことが胃腸管、心臓、脳、脊髄などの器官の構造についても言える。滑走系は疎性結合組織の薄板によって形成されており、これは、腹腔、胸腔、心膜腔、そして脳や脊髄においては、中皮細胞によりその境界が定められている。腱傍結合組織も同様の構造設計を示す。

これらの滑走系は炎症や損傷に対して非常に敏感である。癒着組織が容易に形成されて、機能障害や機能不全さえも引き起こす。腹腔においては癒着が生じて（すなわち、弦線の形成）、隣接または周辺構造の膜様の癒合が生命を脅かす症状の腸疝痛を引き起こしかねない。創傷の治療、腫瘍の摘出または他の疾患の治療のために、あるいは再構築を行うために実施した外科手術は常に癒着を形成させ、その結果、「自然かつ本来の」滑走系の多かれ少なかれ広範囲にわたる減失に結びつく。

皮膚および粘膜内層に対する損傷の治癒は、一方では結合組織の再生能に限り

があるため、そして他方では未成熟な肉芽組織（正常組織と同様の成熟度を獲得する能力が制限されている）の形成のため複雑である。。こうして、ほとんど例外なく、若者でも成人でも、損傷後に真皮が再形成されることはない。真皮に対する小さくかつ／また表在性の損傷は、失われた組織を、隣接する組織型に似た構造の形成および反応性の肉芽組織の形成で置換することにより治癒される。しかし、深部の火傷、III度の熱傷、または真皮の一部の損失といった、より広範囲の組織損失の治癒には、瘢痕の形成、可変的であるが持続的な組織の減失、さらに永久的な変形を必然的に伴う。瘢痕組織における機械抵抗性の構成成分は、主に短繊維のIII型コラーゲンと比較的劣った組織で構成されており、したがって、正常かつ最適なI型コラーゲンと比べたとき機械的性質が弱くなっている。組織の充実性のみならず、無定形の可塑性基質の割合も減少している。血管の数が正常組織の血管数に対して経時的に減少し、血管の分布およびタイプも変化している。対応する正常な血管と比べたとき、より劣った機能の、幅の広い、壁の薄い血管がひんぱんに現れ、リンパ管系も同様に異常である。かくして、滑走系は最終的に硬質の繊維性コラーゲン結合組織で置き換えられる。

さらに複雑で、非常に重要な要因が筋繊維芽細胞(myofibroblast)の出現によってもたらされる。筋繊維芽細胞は、マクロファージの一部と同様に、細胞をゆっくりかつ強力に収縮させて、その収縮を長時間維持することを可能にする、筋タンパク質の細胞質束の数が増加している「普通の」結合組織細胞（繊維芽細胞）である。これは患部組織をさらに変形させてその機能を制限する拘縮(contraction)をもたらすことがある。筋繊維芽細胞の増加は、例えば、乳房インプラント（乳房を大きくしたり、乳房を再構成するために埋め込まれるシリコン補てつ物；詳細については、C. Lossing & H-A Hansson, Plastic Reconstr. Surgery, 1993, Vol. 91, pp. 1277-1286を参照のこと）の周囲と、縫合糸や他の異種材料のインプラントの周辺に見られる。筋繊維芽細胞はある種のリウマチ様疾患の関節のまわりにもかなりの頻度で現れて、指を変形させ、時には脱臼さえも引き起こす。この細胞はデュプイートラン拘縮患者を苦しめる手の変形を起

こす病因となる。普通の繊維芽細胞と同様に筋繊維芽細胞は、特異的なヘテロダ

イマー受容体によってコラーゲン系に付着するが、その受容体の1つのユニットは常に $\beta 1$ -インテグリンにより構成されている。インテグリンをブロックすることは拘縮の排除につながり、炎症を軽減させる薬剤は、インテグリンの発現に影響を及ぼすかもしれない。

こうして、明確に規定された滑走面をもつまたはもたない疎性結合組織の滑走系は最小限の炎症の場合にのみ回復するにすぎない。しかし、肉芽組織は炎症過程との関連においてのみ形成され、炎症過程それ自体が未成熟な細胞および組織成分を形成させる。修復過程で形成された新しい組織が正常な分化レベルに到達できないのは、瘢痕組織が、失われた本来の成熟組織と比べて、質的にも量的にも劣っているという理由による。再生された組織が成熟するには、細胞、繊維および基質の分化を制御し促進する増殖因子へのアクセスが必要である。

背景技術

創傷（例えば、外科的切除や事故によるもの）、炎症または腫瘍の治癒と関連した組織の望ましくない付着を防止するという課題を解決するために、多岐にわたる研究が行われている。PCT 出願 No. US90/02406 には、この特殊な問題と関連した技術が記載されており、また、背景技術の比較的詳しい解説がなされている。上記の特許出願に記載された技術は、生物分解性の生物活性膜からなるサンドイッチ構成物の使用に基づくもので、サンドイッチ構成物の相対する面が異なる組成を有し、それにより異なる生物学的機能を担っている。しかしながら、この製品は市場に出回っていないようである。

発明の概要

したがって、本発明の目的は、使用した際に最小限の炎症を短期間生じさせるにすぎず、さらに生物許容性で、妨害性の分解産物をもたらすことなく生物分解性である抗癒着剤を提供することである。

本発明のもう一つの目的は、界面を誘導することができ、かつ、例えば外科的切除との関連において、機械的および技術的取扱いを簡便化した抗癒着剤を提供することである。

本発明のさらに他の目的は、創傷治癒に関連した隣接または周辺組織と器官の

望ましくない癒着を防止したり、実質的に減ずる方法を提供することである。

本発明の更なる目的は、創傷治癒に関連した組織の再生を刺激することである。

上記のおよび他の目的は以下の説明により解明されるであろうが、こうした目的のために、本発明により、キトサンとそれに固定された多糖との新規な使用が提供される。前記の多糖はヘパリン、ヘパラン硫酸およびデキストラン硫酸から選ばれる。この組成物を用いると、創傷治癒に関連した損傷組織と隣接または周辺組織との望ましくない癒着を防止したり、実質的に減少させることができる作用剤が得られる。

用いる多糖は、主に3つの異なる方法で、キトサンに固定化することができる。こうして、固定化はイオン結合により、共有結合により、または溶液からの沈殿に関連したキトサンへの機械的封入により行われる。アミノ基を有する基質に関連の多糖を共有結合させる方法は米国特許第4,613,665号に記載されている。

多糖としては、特にヘパリンまたはヘパラン硫酸を用いることが好ましく、これらの物質はいくつかの製造会社から販売されている。生物学的活性が保持されているという条件で、多糖の部分的加水分解型ももちろん使用可能である。

本発明にしたがって用いられる抗癒着剤はさまざまな物理的形態で存在することができ、例えばフィルムまたは膜、ゲル、チューブまたはホース、粉末、エーロゾルまたは溶液であり得る。こうした形態を関係する損傷に適合させることはもちろんのことである。ほとんどの場合にはフィルムが有用であるが、特殊な場合、例えば筋肉や腱のような細長い限定された組織と関連した場合にはチューブやゲルも使用できる。

キトサンは β -D-グルコースアミン単位から構成された直鎖状の1,4-結合多糖である。キトサンは、特に昆虫や甲殻類の外殻を形成するポリマーであるキチンのN-脱アセチル化により製造される。商業的には、キチンは水産物業界からの廃棄物であるカニとエビの殻から回収されている。キチンのアルカリ処理を制御することにより、さまざまな程度にN-アセチル化されたキトサンが得られる。キチンを濃アルカリ（通常は水酸化ナトリウム）で処理すると、N-脱アセチル化が起

こり、すなわち、アセトアミド基がアミノ基に変換されてキトサンを生成する。

キトサンの有用性に影響を及ぼすキトサンの物理的性質は、N-アセチル化度、分子量および均一性によって決まる。キトサンは生物分解性であって、消化系のキチナーゼによっても、体液中のリゾチームや他の酵素によっても分解される。

本発明の使用に関連して、キトサンは多くても約90%、好ましくは多くても約50%のN-アセチル化度をもつことが有利である。特に、N-アセチル化度は約25%より低いことが好適である。

本発明はまた、創傷治癒に関連した組織の望ましくない癒着を防止したり、実質的に減ずる方法を提供する。この方法は、創傷治癒部位に、キトサンと、それに固定された、ヘパリン、ヘパラン硫酸およびデキストラン硫酸から選ばれる多糖からなる作用剤を適用することを含む。

関係する創傷の特性に応じて、その作用剤はフィルムの形で、ゲルの形で、またはチューブやホースの形で適用することができる。適用のために選ばれる製品は、例えば対応する外科手術と関連づけて、容易に決定することができる。

好適な実施態様の例

非限定的な例と関連させて以下に本発明を例示することにする。例において、フィルムはすべて、54cm²の表面積をもつペトリ皿上で製造したものである。

例1

キトサンフィルムの製造

キトサン（アセチル化度 50%; Pronova）の塩酸塩5gを蒸留水（0.5L, 1%v/w）に溶解した。得られた溶液10mLをペトリ皿に移し、蒸発させ、70℃の加熱室に入れて24時間乾燥させてキトサンのフィルムを形成させた。次に、得られたフィルムをリン酸ナトリウム緩衝液、0.2M, pH9.0 の添加により中和した。フィルムはペトリ皿中の上記緩衝液に入れたままで室温に2～4時間保持し、その後水で3, 4回洗い、乾燥させた。

例2

キトサンフィルムの製造

キトサン（アセチル化度 20%; Pronova）の塩酸塩5gを2%酢酸溶液（0.5L, 1%v/w

)に溶解した。この溶液を滅菌のために125℃のオートクレーブに1時間入れた。冷却後ペトリ皿でフィルムを形成させたが、その場合20mLの溶液を使用した。次に、フィルムを室温で乾燥させ、リン酸ナトリウム緩衝液、0.2M, pH9.0 をペトリ皿に添加して中和した。フィルムをこの緩衝液に入れたままで室温に2～4時間保持し、その後蒸留水で3, 4回洗い、再度乾燥させた。

例 3

ヘパリンの亜硝酸分解

ヘパリン1gを水300mLに溶解した。この溶液を氷水で0℃に冷却して低温に維持した。最初に亜硝酸ナトリウム(NaNO_2)10mgを加えた。次に、この溶液に攪拌しながら酢酸2mLを加えた。反応混合物を0℃に2時間維持し、透析し、凍結乾燥させた。分解ヘパリンの収量は0.7gであった。

例 4

ヘパリンの過ヨウ素酸酸化

過ヨウ素酸ナトリウムで酸化したヘパリンナトリウムの溶液を次の方法で調製した。過ヨウ素酸ナトリウム(NaIO_4)1gを蒸留水200mLに溶解した。過ヨウ素酸ナトリウムの溶液にヘパリンナトリウム10gを加え、暗室で一夜攪拌した。得られた溶液を、グリセロール10mLを添加して2時間攪拌した後に、水に対して透析した。水を1時間ごとに交換した。これにより、過ヨウ素酸塩-酸化ヘパリンを約19mg/mLの濃度で含む溶液が得られた。

例 5

ヘパリンを共有結合させたキトサンフィルムの製造 (エンドポイント結合)

例1にしたがって製造した中和キトサンフィルムに、水0.5Lに溶解した、例3のようにして製造した亜硝酸分解ヘパリン125mg およびNaCl 4.4gを含む溶液

20mLを添加した。この溶液に水素化シアノホウ素ナトリウム15mgを加えた。この溶液のpHを0.5M塩酸または他の酸を用いて3.9に調整した。キトサンフィルムを含む溶液を室温に14時間放置した後、フィルムを水で3, 4回洗い、乾燥させた。

例 6

ヘパリンを共有結合させたキトサンフィルムの製造（マルチポイント結合）

例2にしたがって製造した中和キトサンフィルムを次の溶液20mL中に24時間入れておいた。塩化ナトリウム4.4g と例4に記載したように製造した過ヨウ素酸化ヘパリン125mg を水0.5Lに溶解し、pHを0.5M塩酸で3.9に調整した。この溶液に水素化シアノホウ素ナトリウム15mgを加え、室温に10時間保持した。処理したフィルムを次に水で3、4回洗い、乾燥させた。ヘパリンを共有結合させる技術に関する詳細については、上記の米国特許第4,613,665号を参照のこと。

例7

ヘパリンをイオン結合させたキトサンフィルムの製造

中和キトサンフィルムを例2のようにして製造した。ヘパリン溶液（NaCl 4.4gを含む水0.5L中に125gを溶解したもの）を加えた。室温で3時間後、フィルムを2×0.5Lの水で洗い、乾燥させた。

例8

生物学的試験（対照）

例2にしたがって製造したフィルムを次の動物モデルにおいて抗癒着膜として使用した。

ラットの腹壁を開き、矢状線のそれぞれの側に外科的手法で約12×10mmの傷をつくった。一方の傷を例2からのフィルム（約18×15mm）で被覆し、他方の傷を

開いたままにした。縫合糸が腹腔内に露出しないように Dexon® 7-0 を使って膜を縫い合わせた。

その結果を2週間後と4週間後に評価した。これに関して、腹腔内にあまり多くはないが膜に対する癒着が観察された。一方、組織の傷をフィルムで覆わなか

った場合には、かなり多い癒着が観察された。

フィルムの下腹部の傷は本質的に癒着組織の形成を伴って治癒し、フィルムの周囲には炎症反応の徴候と被膜(capsule)の形成が見られた。

例9

生物学的試験（本発明による）

例3にしたがって製造したフィルムを次の動物モデルにおいて抗癒着膜として使用した。

ラットの腹壁を開き、矢状線のそれぞれの側に外科的手法で約 12×10 mmの傷をつくった。

一方の傷をフィルム（約 18×15 mm）で被覆し、他方の傷を開いたままにした。例8と同様にして膜を縫い合わせた。

開いたままの損傷部はいくつかの癒着を示したのに対して、フィルムで覆った傷においては、あるにしても、癒着がごくわずかだった。

例10

ヘパリンをイオン結合させたキトサンフィルムの製造

キトサン（アセチル化度 45%；Pronova）の塩酸塩5gを水（0.5L，1%v/w）に溶解した。この溶液を滅菌のために125℃のオートクレーブに1時間入れた。冷却後ペトリ皿でフィルムを形成させたが、その場合20mLの溶液を使用した。次に、フィルムを室温で乾燥させ、ヘパリン溶液（水0.5L中に125g）を加えた。室温で3時間後、フィルムを 2×0.5 Lの水で洗い、乾燥させた。

例11

キトサンフィルムの製造

キトサン（アセチル化度 45%；Pronova）の塩酸塩5gを水（0.5L，1%v/w）に溶解した。この溶液を滅菌のために125℃のオートクレーブに1時間入れた。冷却後ペトリ皿でフィルムを形成させたが、その場合20mLの溶液を使用した。次に、フィルムを室温で乾燥させ、リン酸ナトリウム緩衝液，0.2M，pH9.0をペトリ皿に

添加して中和した。フィルムをこの緩衝液に入れたままで室温に2～4時間保持し、その後蒸留水で3，4回洗い、再度乾燥させた。

例12

生物学的試験（本発明による）

例10で上述したようにキトサンーヘパリンから製造したフィルムを、上記のように腹壁につくった傷（ 10×12 mm，深さ1mm）を覆うために配置した。腹壁の対側に同一の傷をつくり、例11に記載したキトサンフィルムで被覆した。2週間

後に癒着の発生を評価した。ヘパリン-キトサンフィルムで覆った傷には癒着がなかったが、普通のキトサンフィルムで覆った傷には少数の小さな癒着が見られた。ヘパリン-キトサンフィルムを光学顕微鏡で検査したところ、中皮様細胞による被覆度を含めて創傷治癒が向上し、しかも、ヘパリン-キトサンフィルムと損傷腹壁組織との界面における炎症細胞の浸潤が、普通のキトサンフィルムで覆った対応損傷部よりも広範でないことが明らかになった。

例 1 3

キトサン-ヘパリンフィルムの製造

キトサン(アセチル化度 16%; Pronova)の塩酸塩5gを2%酢酸溶液(0.5L, 1%v/w)に溶解した。この溶液を滅菌のために125℃のオートクレーブに1時間入れた。冷却後ペトリ皿でフィルムを形成させたが、その場合20mLの溶液を使用した。次に、フィルムを70℃のオーブンに入れて16時間蒸発させた。このフィルムを0.1M NaOH 溶液で室温で3時間処理した後、蒸留水で3, 4回洗い、再度70℃で2時間乾燥させた。その後、得られたフィルムをペトリ皿に移し、0.2Mホスフェート緩衝液(pH6.4)に溶解した天然ヘパリン(1%w/v、ブタ粘膜、Kabivitrum)の無菌溶液30mLを加えた。フィルムを室温に一夜放置した後、滅菌水で洗い、LAF ベンチで乾燥させた。フィルムを0.5%、0.1%、0.01% および0.00% ヘパリン溶液でそれぞれ処理することにより、さらに4種類のフィルムを上記のように製造した。ヘパリン化フィルムの元素分析を行ったところ、フィルムはそれぞれ1.2%、0.9%、1.3%、0.23% および0.007%の硫黄を含んでいた。これ

らの数値はそれぞれヘパリン含有量 9.2%、7.7%、10.8%、1.9%および0%に相当した。

例 1 4

in vitro創傷の作製

乳房切断標本からヒトの無菌皮膚を得た。それぞれの実験において、一人のドナーから得た皮膚のみを使用した。無菌条件下で、生検パンチ(Stiefel Laboratories, UK)を使って直径6mmの円を切り取った。各切片の中心に、3mmの生検パンチを使って部分的な傷を表皮側につくり、続いて切片を表皮側を上にして12

ウェルプレート (Costar) に移した。各ウェルにダルベッコ改良イーグル培地 (DMEM) を表皮レベルまで満たし、傷を気/液界面に保持した。全ての試料にウシ胎児血清 (FCS, 2%) と抗生物質 (ペニシリン50 μ g/mLおよびストレプトマイシン50 μ g/mL) を加えた。

例 1 5

in vitro治癒試験

例 1 4 に記載したin vitro創傷を5群に分割し、1群に10の生検材料を含めた。全ての傷を例 1 3 に記載したヘパリン化フィルムで覆った。培地を毎日交換した。7日後、切片を4%中性緩衝ホルムアルデヒド中で固定し、エタノールーキシレン系列により脱水し、パラフィン中に包埋した。横断面 (厚さ10~20mm) をヘマトキシリンとエオシンで染色し、光学顕微鏡で再上皮形成の程度を調べた。全体的にケラチノサイトで覆われた傷のみを治癒と見なした。

図 1 から明らかなように、ヘパリン含有量が2%以下のフィルムは細胞増殖を促進しなかった。

例 1 6

ゲル組成物の調製

0.9% NaCl を含む水を用いて次の4種類のゲル組成物を調製した。

A = 2%メチルセルロース

B = 2%メチルセルロース + 0.2%ヘパリンナトリウム

C = 0.5%メチルセルロース + 1%キトサン (アセチル化度 16%)

D = 0.5%メチルセルロース + 1%キトサン (アセチル化度 16%) + 0.2%ヘパリンナトリウム

例 1 7

in vitro治癒試験

例 1 4 に記載したin vitro創傷を6群に分割し、1群に10の生検材料を含めた。5群の全ての傷を例 1 6 に記載したゲル組成物で被覆した。残りの1群は培地 (2%FCS) でのみ処理した。培地を毎日交換した。7日後、切片を4%中性緩衝ホルムアルデヒド中で固定し、エタノールーキシレン系列により脱水し、パラフィン

中に包埋した。横断面（厚さ10～20mm）をヘマトキシリンとエオシンで染色し、光学顕微鏡で再上皮形成の程度を調べた。全体的にケラチノサイトで覆われた傷のみを治癒と見なした。

図2から明らかなように、キトサンとヘパリンの組合せからなるゲルは、キトサンのみまたはヘパリンのみを含むゲルよりも良好に傷を治した。

例18

生物学的試験（本発明による）

例7にしたがって製造したフィルムを用いて例9を繰り返した。

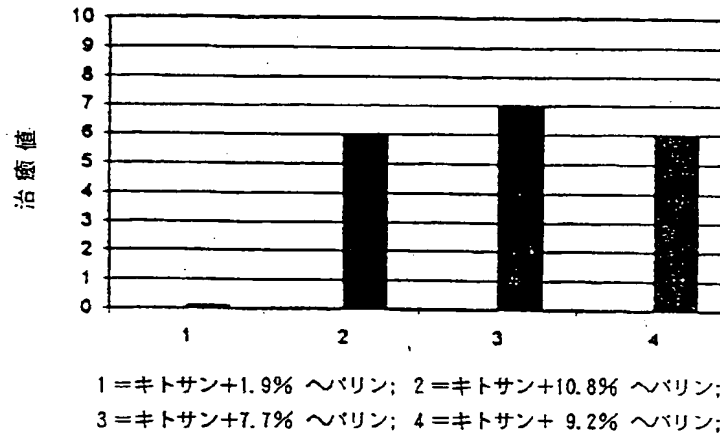
上記の生物学的実験から明らかなように、本発明による技術を用いることにより、癒着の防止および増殖の促進を含めた治癒特性を実質的に向上させることが可能である。本発明は上記の例に制限されず、本発明の範囲は請求の範囲によってのみ限定される。

本発明の適用に関して、次の器官および構造（例えば、腹壁、胸壁、肺、心膜、中心血管、腸管、尿管、頭蓋骨、脳髄膜、脊髄、腱、神経、筋肉、骨、粘膜、角膜、皮膚など）における創傷と関連させて、上記のように製造したフィルムもしくは膜、ゲルまたは粉末、あるいは溶液を使用することができる。

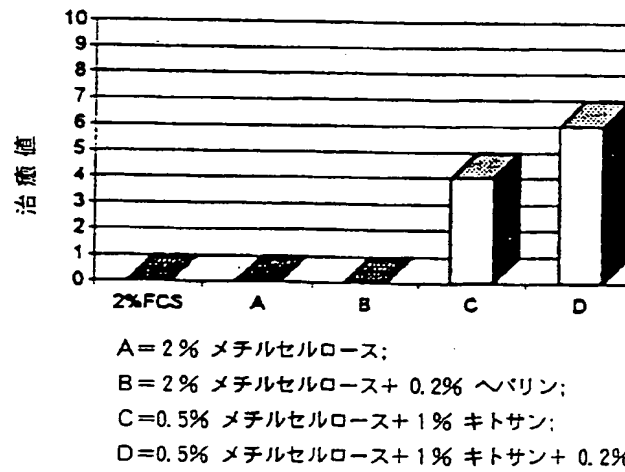
チューブやホース、またはゲルの形の製品は増殖刺激のガイドとして使用できると同時に、周囲への癒着を防ぐという事実により滑走面を維持することができる。こうした製品は神経、腱および靭帯、腸管、尿管、血管などと関連させて使用することができる。

本発明を増殖因子と組み合わせることにより、治癒の質がより一層高まるであろう。

【図1】

Fig 1

【図2】

Fig 2

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/SE 95/00856

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC6: A61K 31/725, A61K 31/73

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC6: A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

SE,DK,FI,NO classes as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLUS, WPIDS, MEDLINE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Journal of Periodontology, Volume 62, No 10, 1991, S. Pitaru et al, "Heparan Sulfate and Fibronectin Improve the Capacity of Collagen Barriers to Prevent Apical Migration of the Junctional Epithelium" page 598	1-9

X	US 4326532 A (WALTON J. HAMMAR), 27 April 1982 (27.04.82)	1-9

X	US 5116824 A (TERUO MIYATA ET AL), 26 May 1992 (26.05.92), column 3, line 1 - line 11	1-9

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.
 ☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

19 October 1995

Date of mailing of the international search report

10-11-1995

Name and mailing address of the ISA/

Swedish Patent Office

Box 5055, S-102 42 STOCKHOLM

Facsimile No. +46 8 666 02 86

Authorized officer

Anna Sjölund

Telephone No. +46 8 782 25 00

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/SE 95/00856

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 10-14
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
See PCT Rule 39.1(iv): Methods for treatment of the human or animal body by surgery or therapy, as well as diagnostic methods.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

02/10/95

International application No.

PCT/SE 95/00856

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US-A- 4326532	27/04/82	AU-B,B- 543926	09/05/85
		AU-A- 7600981	22/04/82
		CA-A- 1148458	21/06/83
		EP-A,A,A 0051354	12/05/82
		SE-T3- 0051354	
		JP-B- 1045373	03/10/89
		JP-C- 1559151	16/05/90
		JP-A- 57089868	04/06/82
US-A- 5116824	26/05/92	DE-A,T- 3688805	09/09/93
		EP-A,A,A 0200574	05/11/86
		SE-T3- 0200574	
		JP-C- 1507636	26/07/89
		JP-A- 61253065	10/11/86
		JP-B- 63059706	21/11/88

フロントページの続き

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, DE,
DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, M
C, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG
, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN,
TD, TG), AP(KE, MW, SD, SZ, UG),
AM, AT, AU, BB, BG, BR, BY, CA, C
H, CN, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB
, GE, HU, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LK, LR, LT, LU, LV, MD, MG, M
N, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU
, SD, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TT,
UA, UG, US, UZ, VN